1一例 COL4A4 基因新突变:常染色显性遗传 Alport 综合征与终末期肾脏病

10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0528

郭婷 1，张建 1，丁樱 1,2，杨晓青 1，翟文生 1,2，宋纯东 1，张霞 1，张博 1，

高旭光 1，刘丽雅 1

摘要：Alport 综合征（AS）是慢性肾脏病和终末期肾脏病的重要病因之一，是继常染色体显性多囊肾后第二常见的遗传性肾脏疾病。常染色体显性遗传是 AS 中非常少见的遗传方式，既往报道常染色显性遗传型 Alport 综合征（ADAS）患者进展至终末期肾脏病年龄较晚。本文总结了一例 COL4A4 基因新发变异 c.3506-3528del（p.G1169Efs*13）所致 ADAS 家系的临床、病理及基因突变情况，其中一名家系成员在 31 岁时发展至终末期肾脏病。

关键词 Alport 综合征；常染色体显性遗传；COL4A4；终末期肾脏病

基金项目：豫卫中医函[2021]16 号，河南省第二批中医药青苗人才培养项目。

A novel COL4A4 gene mutation: autosomal dominant Alport syndrome with End-stage renal disease

Guo Ting1, Zhang Jian1, Ding Ying1,2, Yang Xiaoqing1, Zhai Wensheng1,2, Song Chundong1, Zhang xia 1, Zhang Bo1, Gao Xuguang1, Liu Liya1

1Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital of Henan University of CM, Zhengzhou 458000;

2School of Pediatrics, Henan University of Chinese Medicine,Zhengzhou 458000.

First author: Guo Ting, Email: gtsincerely@163.com

Corresponding author: Ding Ying, Email: dingying3236@sina.com

【Abstract】 Alport syndrome (AS) is one of the important causes of chronic kidney disease and end-stage renal disease. It is the second most common inherited kidney disease after autosomal dominant polycystic kidney disease. Autosomal dominant inheritance is a very rare mode of inheritance in AS. It has been reported that patients with autosomal dominant Alport syndrome (ADAS) progress to end-stage renal disease at a later age. This article summarizes the clinical and pathological features, as well as genetic mutations of a novel

河南中医药大学第一附属医院儿科，郑州 458000；[2]河南中医药大学儿科医学院，郑州 450000
第一作者：郭婷，Email：gtsincerely@163.com
通讯作者：丁樱，Email：dingying3236@sina.com，

COL4A4 gene mutation c.3506-3528del (p.G1169Efs*13) in an ADAS family. One family member developed end-stage renal disease at the age of 31.

【Key words】Alport syndrome; autosomal dominant inheritance; COL4A4; end-stage renal disease

Fund program:Yuwei TCM Letter [2021] No. 16, the second batch of TCM young talent training projects in Henan Province.

Alport 综合征（Alport syndrome，AS）是一种以血尿、蛋白尿和进行性肾衰竭为特征的遗传性肾小球疾病[1]，发病率约为 1/10000～1/5000[2]，约占成人新发终末期肾脏病（end-stage renal disease，ESRD）的 0.5%[3]、儿童的 12.9%和接受肾脏替代疗法患者的 2%[4]。本病存在三种遗传方式，其中 80～85%为 COL4A5 或（和）COL4A6 基因突变导致的 X 连锁 AS（X-linked Alport syndrome, XLAS），其余为 COL4A3 或（和）COL4A4 基因突变导致的常染色体隐性遗传 AS（autosomal recessive Alport syndrome，ARAS）和常染色体显性遗传 AS（autosomal dominan Alport syndrome，ADAS）。既往报道 ADAS 约占 AS 的 1%～5%，最近研究发现 ADAS 发生率可能高达 18.9%[5]。相比男性 XLAS 和 ARAS，ADAS 临床表型相对较轻，进展至 ESRD 时间较晚。本文首次报道了 ADAS c.3506-3528del (p.G1169Efs*13)变异（该家系中一名成员在 31 岁时已进展至 ESRD，并对其临床、病理和遗传学进行分析，进一步探讨 ADAS 的预后，以期拓宽 COL4A4 的基因突变谱，提升对本病的认识。

1 病例简介

1.1 一般资料

先证者(II-4)，女，30 岁，因发现尿检异常 4 年就诊。患者 4 年前体检发现镜下血尿、蛋白尿和高血压（1 级），此后，间歇性服用缬沙坦、氯沙坦或中药等治疗，病情无好转。家族史：先证者父亲(I-1)有镜下血尿和高血压（2 级）。先证者两个女儿(III-3，III-4)和儿子(III-5)均出现镜下血尿。先证者姐姐(II-2)在 31 岁时被诊断为 ESRD、肾萎缩、高血压（2 级），儿子(III-1)有镜下血尿，女儿(III-2)未见异常表现。先证者妹妹(II-6)和她的两个儿子(III-6，III-7)未见异常表现。该家系患者生长发育均正常。家系谱见图 1，家系患者主要临床表型见表 1。

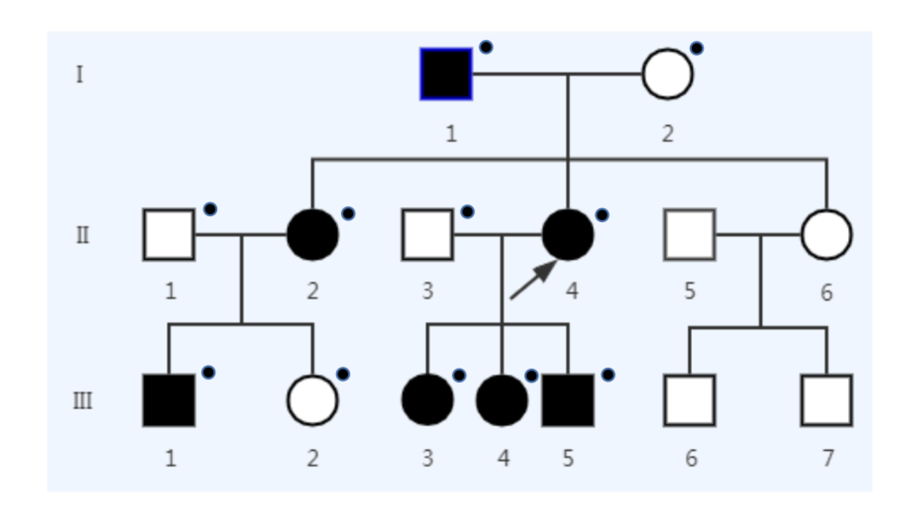


图 1　先证者家系谱



注：男性 女性　现患病人　先证者　完成基因检测验证者

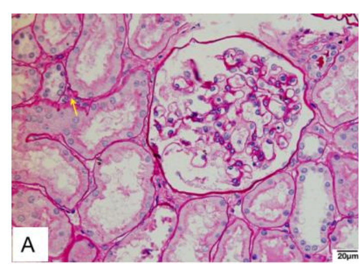
表 1　家系患者主要临床表型总结

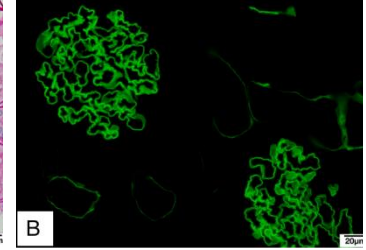
家系成员	性别	年龄(岁)	血尿	蛋白尿	肾功能	眼部问题	听力异常
I-1	男	70	+	—	CKD 2 期	—	—
II-2	女	39	+	2+ (1.9g/24h)	ERSD	—	—
II-4	女	30	+	± (0.6g/24h)	CKD 1 期	—	—
III-1	男	12	+	—	CKD 1 期	—	—
III-3	女	8	+	—	CKD 1 期	—	—
III-4	女	6	+	—	CKD 1 期	—	—
III-5	男	4	+	—	CKD 1 期	—	—

1.2 实验室检查

先证者入院后查尿常规：尿蛋白±，潜血 3+，红细胞 284.1/μl；24 小时尿蛋白定量 0.6g/24h；肾功能(血清肌酐：78μmmol/L)、抗核抗体、抗中性粒细胞胞浆抗体、抗双链 DNA 抗体、血沉、补体 C3 和 C4 均正常。眼科检查：无前圆锥形晶状体、黄斑周围点状和斑点状视网膜病变等特征性改变。听力检查：无双侧高频感音神经性听力损失。超声提示未见肾脏、输尿管及膀胱异常。

肾脏病理：光镜见 1 条皮质和 1 条皮髓交界组织，共 22 个肾小球，其中 3 个小球缺血废弃，余小球系膜偶见节段轻度增生；少数小管腔内见蛋白管型；小灶性和散在肾小管萎缩、间质纤维增生。免疫荧光，常规标记 IgG、IgA、IgM、C3、C4、C1q、Fibrinogen 均阴性；基底膜 IV 型胶原 α3、α5 链表达正常。电镜下肾小球系膜细胞和基质轻度节段增生，基底膜弥漫变薄（100-250mm），节段厚薄不均伴致密层分层状改变，上皮足突大部分融合，未见电子致密物沉积。病理诊断：早期 Alport 综合征可能性大。见图 2。





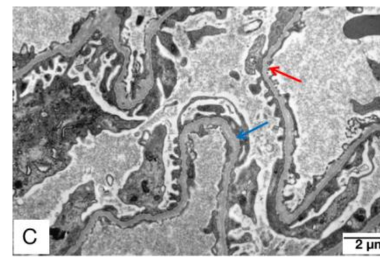


图 2　先证者肾脏病理图

注：A.小灶性小管基底膜增厚，间质少量纤维增生 (PAS 染色)　B. 免疫荧光 α3（IV）表达正常　C.电镜 基底膜变薄（红色箭头所示），小节段分层（蓝色箭头所示）

1.3 基因突变分析

采集先证者及其他家系成员（先证者父母，先证者丈夫及其子女，先证者姐姐及其丈夫和子女）外周血标本 2ml 送至北京迈基诺医学检验所，进行二代测序分析先证者致病基因，用 Sanger 测序方法在家系其他成员对所发现的致病基因变异及父母来源进行验证。结果显示，先证者 COL4A4 基因有 1 个杂合移码突变：COL4A4 基因编码区第 3506-3528 位碱基缺失，导致第 1169 位氨基酸甘氨酸变为谷氨酸，即 p.G1169Efs*13，并终止于第 1181 位（图 3）。与野生型 COL4A4 蛋白相比，突变的 COL4A4 改变了蛋白结构（图 4）。对照正常人群数据库（dbSNP、千人基因组、ESP6500、EXAC）该位点变分布频率为-，为低频变异。检索 HGMD 数据库未有该位点的相关报导，ClinVar 数据库无该位点致病性分析结果。根据美国《ACMG 遗传变异分类标准与指南》，该变异被解释为“疑似致病性变异”[PVS1+PM2：PVS1：该变异为零效变异（移码变异，可能导致基因功能丧失）；PM2：在正常人群数据库中的频率为-，为低频变异]。进一步 Sanger 测序证实，先证者父亲，先证者两个女儿、儿子，先证者姐姐及其儿子，chr2-227898174-227898210 显示 c.3506-3528del 杂合突变，其他成员 chr2-227898174-

227898210 未显示突变。经家系验证分析，该变异来自先证者父亲。综合临床、电镜和基因结果，按照 ADAS 诊断标准，诊断患者为 ADAS。

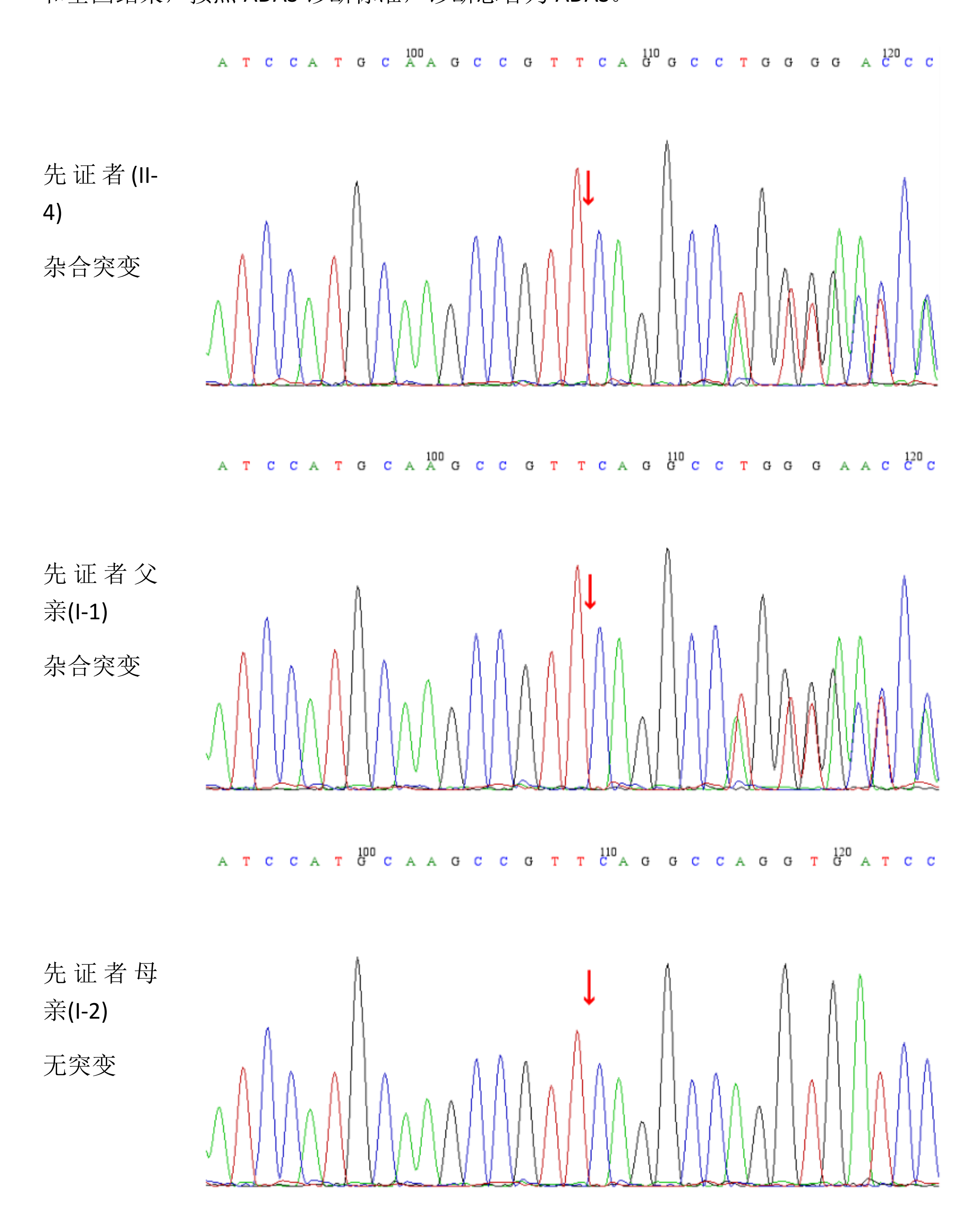


图 3　COL4A4 基因测序图

注：先证者及先证者父亲存在 c.3506-3528del 杂合突变

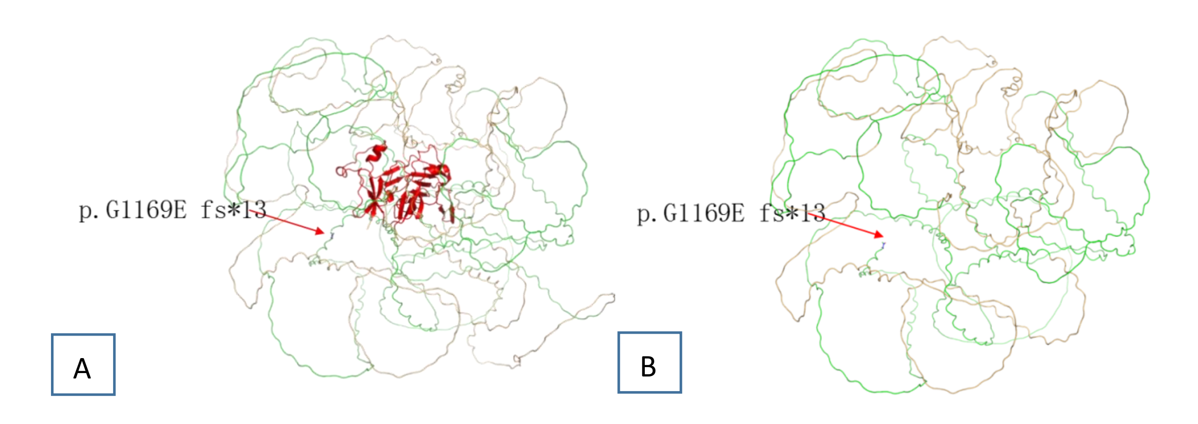


图 4　COL4A4 蛋白三维结构图

野生型　　B.本研究突变型

注：蛋白结构域信息参考数据库 http://pfam.xfam.org/protein/P53420

结构域:绿色：Collagen triple helix repeat；

红色：C-terminal tandem repeated domain in type 4 procollagen；

1.4 治疗及随访

随访两年，先证者服用贝那普利治疗，复查尿常规：尿蛋白-，潜血 3+，红细胞 274.6/μl；24 小时尿蛋白定量 0.5g/24h；肾功能：血清肌酐：69μmmol/L（CKD 1 期）。先证者姐姐仍在进行透析治疗。其余患者仍仅表现为镜下血尿，未见其他异常。

2　文献检索结果

目前，有关 ADAS 的表型数据相对稀少，中国知网、维普、万方、Pubmed 等数据库中共检索到 7 篇中国人 ADAS 的文献报道[6-12]，其中国内 4 篇，国外 3 篇。本研究中 ADAS 患者与文献报道的中国人 ADAS 患者临床表型见表 2。

表 2 中国 ADAS 患者临床表型总结

文献来源	先证者情况							家系患者情况			
	性别	年龄	血尿	蛋白尿	ESRD	眼部问题	听力异常	总人数	ESRD (人)	眼部问题 (人)	听力异常 (人)
本研究	女	30	+	±	—	—	—	7	+(1)	—	—
王大海 2021[6	女	1 岁	+	+	+	—	—	3	+(1)	—	—

]		6 月			(12 岁)						
栾 艺 2019[7]	女	6	+	—	—	—	—	3	—	+(1)	—
Li A 2018[8]	男	35	+	+	—	—	+	NA	NA	NA	NA
Guo LW 2017[9]	男	21	+	+	—	—	+	7	1	—	+(3)
Deng S 2016[10]	男	32	+	—	—	—	—	10	+(2)	—	—
束双双 2014[11]	男	21	+	+	—	+	+	7	+(2)	—	+(1)
张承英 2002[12]	女	41	+	+	—	—	—	8	+(1)	+(1)	+(2)

注：+/一为有无对应临床表现；ESRD：终末期肾病；NA：未获取数据

3 讨论

1997 年 ADAS 首次被报导[13]。2004 年，Pescucci 等[14]证实了 ADAS 是由 COL4A4 或 COL4A3 基因突变引起。ADAS 中发现的 COL4A3 或 COL4A4 基因突变无明显热点区域。COL4A3 或 COL4A4 基因发生突变，其所编码的 IV 胶原的 α3 或 α4 链结构异常，影响肾小球基底膜（glomerular basement membrane,GBM）的 IV 型胶原网络稳定性，导致本病的发生。大多数 ADAS 患者具有血尿，血尿以外的临床表现具有高度可变性和年龄依赖性，蛋白尿为第二常见表现，相对于其他遗传类型，ADAS 肾脏病变进展缓慢，且肾外症状发生率较低。国外三项有关 ADAS 的研究发现[15-17]，50.0%~ 65.2%的患者出现蛋白尿，12.0%~24.3%的患者进入 ESRD，2.4%~ 4.0%的患者 41 岁前达到 ESRD，中位肾脏存活时间为 70 年，3.0%~8.4%的患者有感音神经性耳聋，约 2.7%的患者有眼部特异性损害。本研究中 7 名患者均有镜下血尿，其中 2 人伴有蛋白尿，1 人发展至 ESRD，所有均未见眼部特异性损害和听力异常，与文献报道基本一致。

由于 40%薄基底膜肾病（Thin Basement Menbrane Nephropathy,TBMN）患者可被检出 COL4A3 或 COL4A4 突变，对于不典型 ADAS，应注意与 TBMN 鉴别。TBMN 伴有显著蛋白尿及发展至 ESRD 很罕见，肾脏病理是区分二者的重要依据，GBM 弥漫性变薄是 TBMN 诊断的“金标准”，而电镜下见 GBM 致密层不规则变薄、增厚、撕裂分层是 ADAS 特征性的肾脏病理改变[18]。该家系患者基因检测示 COL4A4 基因杂合突变，临床表现为血尿、蛋白尿，一名成员于 31 岁进展至 ESRD，先证者肾脏病理提示 GBM 节段厚薄不均伴致密层分层状改变，结合家系调查结果，ADAS 诊断明确。近年来发现 COL4A3、COL4A4 基因突变亦为 FSGS 的致病基因，ADAS、TBMN、FSGS 具有重叠的病理和基因突变，亦有学者提议将三者视为 IV 型胶原相关肾病的亚型，代表疾病进展的不同阶段，但目前尚未形成共识[19]。

ADAS 肾病进展缓慢，患者进入 ESRD 时间较晚。尽管双基因或复合遗传被认为是严重表型的原因之一，但在 Furlano 等[16]研究中 41 岁之前需要肾脏替代治疗的患者中并没有显示出双基因或复合遗传，临床表型及预后的巨大差异提示了遗传修饰因素或环境因素的作用。此外，在 CKD 中相当比例的患者发现 COL4A3 或 COL4A4 致病变异[20-21]，提示异常的 IV 胶原三螺旋结构可能对患者造成严重损害，但不能排除 COL4A3 或者 COL4A4 致病变异是其他肾脏病，如高血压或糖尿病肾病的一种有害因素[16]。本病迄今尚无根治方法，药物干预旨在减少蛋白尿，减缓疾病进展。既往认为 ADAS 在儿童时期干预的紧迫性较低，而 2020 年国外更新的《儿童、青少年和年轻成人 Alport 综合征诊断和管理的临床实践建议-2020 年更新》指出[22]： ACEI 依然是 AS 患者的一线治疗方案，ARB 和醛固酮抑制剂为二线治疗方案，对于 ADAS 患者，建议当排除感染的情况下重复出现微量白蛋白尿时(定义为尿微量白蛋白/肌酐大于 30mg/g)给予治疗。本家系中一名患者于 31 岁进展为 ESRD，考虑其进展至 ESRD 与以下因素有关：（1）该患者仅进行了 Sanger 测序，是否存在其他基因突变尚不知晓；（2）患者可能存在影响肾脏预后的其他因素，高血压增加了患者进展至 ESRD 的风险；（3）确诊时间较晚，未及时进行药物干预治疗。

综上，ADAS 在我国报道甚少，本文首次报道了 COL4A4 基因 c.3506-3528del 突变导致了 ADAS，扩充了 AS 的基因突变谱。本病患病率较低，一些患者缺乏特异性表现，以及环境或基因修饰物的突出作用等，可能是其诊断罕见的原因。提高对 ADAS 的认识将促进其诊断，并减少肾衰竭的发生。

利益冲突：所有患者均声明不存在利益冲突。

参考文献

[1]邓海月,王聪,王晓媛,等.男性 X 连锁 Alport 综合征 COL4A5 突变嵌合体病例报道及文献复习[J].中华肾脏病杂志,2021,37 (11) : 865 -871. DOI:10.3760/cma.j.cn441217-20201203-00132.

[2]葛丽丽,陈重芬,刘磊,等.一个常染色体隐性遗传型 Alport 综合征家系的临床及遗传学分析[J].中华医学遗传学杂志,2019,36(09):914-915-916-917.DOI：10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2019.09.015.

[3] Mallett A , Tang W, Clayton PA , et al. End-stage kidney disease due to Alport syndrome: outcomes in 296 consecutive Australia and New Zealand Dialysis and Transplant Registry cases[J]. Nephrol Dial Transplant, 2014,29(12):2277-2286. DOI: 10.1093/ndt/gfu254.

[4] Hattori M, Sako M, Kaneko T, et al. End-stage renal disease in Japanese children: a nationwide survey during 2006-2011[J]. Clin Exp Nephrol, 2015,19(5):933-938. DOI: 10.1007/s10157-014-1077-8.

[5] Moriniere V, Dahan K, Hilbert P, et al.Improving mutation screening in familial hematuric nephropathies through next generation sequencing[J].J Am Soc Nephrol, 2014, 25 (12) :2740-2751. DOI: 10.1681/ASN.2013080912.

[6]王大海,荆欣欣,单春荣,等.以肾病综合征起病的常染色体显性遗传 Alport 综合征一家系的临床特点及基因分析[J].中华实用儿科临床杂志,2021,36(21): 1662 - 1664. DOI:10.3760/cma.j.cn101070-20200918-01531.

[7]栾艺,许英,邓雅文,等.以家族性显性遗传型血尿为主要表现的 Alport 综合征一家系与 COL4A4 基因突变[J].中华检验医学杂志,2019,42(09):793- 797.DOI:10. 3760/cma.j.issn.1009-9158.2019.09.014.

[8] Li A, Gao EZ, Cui YX, et al. Three Novel Heterozygous COL4A4 Mutations Result in Three Different Collagen Type IV Kidney Disease Phenotypess[J]. Cytogenet Genome Re,2018,154(1):30-36. DOI: 10.1159/000486979.

[9]Guo LW, Li D, Dong SS, et al. Mutation analysis of COL4A3 and COL4A4 genes in a Chinese autosomal-dominant Alport syndrome familys[J]. J Genet,2017 Jun;96(2):389-392. DOI: 10.1007/s12041-017-0786-7.

[10]Deng S, Xu H, Yuan J, et al. Identification of a novel collagen type IV alpha-4 (COL4A4) mutation in a Chinese family with autosomal dominant Alport syndrome using exome sequencings[J]. Indian J Med Res,2016,144(2):200-205. DOI: 10.4103/0971-5916.195026.

[11]束双双,张连云,黄艳梅,等.常染色体显性遗传 Alport 综合征一家系 COL4A3 及 COL4A4 的基因突变[J].郑州大学学报(医学版),2014,49(05):723-726.DOI：10.13705/j.issn.1671-6825.2014.05.036.

[12]张承英,朱世乐,张建荣,等.常染色体显性遗传 Alport 综合征的家系调查及免疫组化研究[J].武警医学,2002,13(10):595-597.

[13] Jefferson JA, Lemmink HH, Hughes AE, et al.Autosomal dominant Alport syndrome linked to the typeⅣcollage alpha 3 and alpha 4genes (COL4A3 and COL4A4)[J].Nephrol Dial Transplant,1997,12(8):1595-1599. DOI:10.1093/ ndt/12.8. 1595.

[14] Pescucci C, Mari F, Longo I, et al. Autosomal-dominant Alport syndrome: natural history of a disease due to COL4A3 or COL4A4 gene[J]. Kidney Int,2004, 65(5):1598-1603. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2004.00560.

[15] Kamiyoshi N, Nozu K, Fu XJ, et al. Genetic, Clinical, and Pathologic Backgrounds of Patients with Autosomal Dominant Alport Syndrome[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2016,11(8):1441-1449. DOI: 10.2215/CJN.01000116.

[16] Furlano M, Martínez V, Pybus M, et al. Clinical and Genetic Features of Autosomal Dominant Alport Syndrome: A Case Series[J]. Am J Kidney Dis, 2021, 78(4):560-570. DOI:10.1053/j.ajkd.2021.02.326.

[17] Marcocci E, Uliana V, Bruttini M , et al. Autosomal dominant Alport syndrome: molecular analysis of the COL4A4 gene and clinical outcome[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009,24(5):1464-1471. DOI: 10.1093/ndt/gfn681.

[18]袁昶,黄文彦.Alport 综合征的诊断和治疗进展[J].罕少疾病杂志,2022,29 (01):1-3+9.

[19] 胡宁宁，杨怡青，戴选彤,等.常染色体显性遗传Ⅳ型胶原相关肾病研究进展[J].上海医学, 2021, 44(1):62-68. DOI:10.19842/j.cnki.issn.0253-9934.2021.01.014.

[20] Groopman EE, Marasa M, Cameron-Christie S, et al. Diagnostic utility of exome sequencing for kidney disease[J]. N Engl J Med, 2019;380(2):142-151. DOI: 10.1056/NEJMoa1806891.

[21] Cameron-Christie S, Wolock CJ, Groopman E, et al. Exomebased rare-variant analyses in CKD[J]. J Am Soc Nephrol,2019;30(6):1109-1122. DOI: 10.1681/ ASN. 2018090909.

[22] Kashtan CE, Gross O. Clinical practice recommendations for the diagnosis and management of Alport syndrome in children, adolescents, and young adults－an update for 2020[J]. Pediatr Nephrol, 2020, 36(3):711-719. DOI: 10.1007 /s00467 -020-04819-6.